

电诱导细胞融合试剂盒

产品货号：T10118

产品规格：20T

产品简介：

细胞融合(cell fusion)是两个或两个以上细胞融合并形成一个细胞过程。在自然情况下，体内、体外发生的细胞融合的现象称为自然融合；体外培养的细胞可用人工方法诱导相同或者不同细胞间发生融合，称为人工诱导融合。体外培养的单层贴壁细胞或悬浮细胞均可以做融合，但成功概率较大的是单层贴壁细胞。电诱导细胞融合试剂盒是20世纪80年代发展起来的一项生物工程技术，其作用原理是先使细胞在电场中极化成偶极子，并延电力线成串排列，用高强度、短时程的电脉冲击穿细胞膜，促使细胞发生融合。该细胞融合方法具有无毒、融合频率高、易控制等优点。该试剂盒有效成分经严格无菌处理，仅用于科研领域，不用于临床诊断或治疗。

产品内容：

产品名称	20T	保存条件
试剂(A): PM脉冲缓冲液	500ml	2-8°C
试剂(B): PMF融合后液	100ml	2-8°C
试剂(C): HAT Media Supplement(50×)	10ml	-20°C

自备材料：

1. BALB/C小鼠、SP2/0骨髓瘤细胞
2. 离心管
3. 离心机
4. RPMI 1640培养基、胎牛血清
5. 200目细胞筛
6. 显微镜
7. 细胞电融合仪
8. CO₂培养箱
9. 96孔、24孔培养板

注意事项：

1. 应注意无菌操作，避免被微生物污染。
2. 如需HAT选择系列产品，可选择A Media Supplement(50×)、HT MediaSupplement(50×)、HAT Media Supplement(50×)。

使用方法：

1. 准备细胞：
 - a. SP2/0骨髓瘤细胞：融合前，提前1天将SP2/0骨髓瘤细胞传代，培养至其处于对数生长期。将该细胞收集于无菌离心管中，1000g离心8~10min，弃上清液。加入10mL无血清RPMI 1640培养基，将细胞沉淀悬浮起来备用。
 - b. 淋巴细胞：融合前，取经3次用目的抗原免疫的BALB/C小鼠脾脏，每次免疫间隔2~3周，最后一次免疫后3~4天处死小鼠，取出脾脏，加入10mL无血清RPMI 1640培养基，将细胞沉淀悬浮起来备用。
 - c. 饲养细胞：融合前，收集健康的BALB/C小鼠腹腔中的腹水，将腹水（巨噬细胞悬液）1000g离心8~10min，弃上清液。加入25mL HAT选择培养液（按HAT Media Supplement: 含胎牛血清的RPMI 1640培养液=1: 49配制），混匀，接种到96孔或24孔培养板。经培养形成的饲养层细胞，可以辅助新的融合细胞的生长。
2. 细胞融合：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

- a. 将骨髓瘤细胞和淋巴细胞按5: 1比例混合, 细胞密度为 1.5×10^7 个/ml, 细胞悬液以1000g离心8~10min, 弃上清液。
 - b. 将细胞沉淀加入5mL PM脉冲缓冲液, 1000g离心8~10min, 弃上清液。重复1次该步骤。
 - c. 用少量PM脉冲缓冲液重悬细胞沉淀, 一般细胞浓度应达到 2×10^6 个/ml, 注入细胞电融合仪的电极小池或融合槽。注意: 应根据不同体积的电极小池或融合槽加入细胞悬液, 大多数细胞电融合仪的融合容积在20~4000 μ L之间。按如下条件电泳: 交流电场频率1MHz, 振幅250V/cm, 时间30s。在显微镜下观察, 看到80%的细胞已经形成珠串时, 立即加穿孔电脉冲, 其条件为: 脉冲幅度5kV/cm, 时间常数20ms, 脉冲个数5, 间隔1s。
 - d. 1000g离心8~10min, 弃上清液。向细胞沉淀加入25mL HAT选择培养液, 混匀, 接种到96孔或24孔培养板, 37°C 5%CO₂培养12~24h。
3. 筛选: 细胞融合后12~24h, 将细胞接种到HAT选择培养液中, 细胞密度达到60~80%汇合率之间, 容许细胞进一步生长, 进行异核体筛选, 4~14天后可观察到大集落的杂交瘤细胞克隆。结果: 一般培养3~5天后即可见小克隆出现, 杂交细胞较大, 呈圆形且透明, 其他细胞透光性差并逐渐死亡。当培养8~12天后, 克隆可长至孔底面积的30~50%, 此时可取培养上清液进行抗体检测。一旦检测到分泌预定抗体的克隆, 应及时将阳性克隆转种24孔培养板进行扩大培养。

有效期: 6个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>